

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keamanan Pangan

Makanan sehat dan aman adalah faktor penting untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat, sehingga kualitas dan keamanan pangan harus selalu dipertahankan baik secara biologi, kimia maupun fisik agar pengguna produk pangan tersebut dapat terhindar dari penyakit akibat makanan atau penyakit bawaan makanan serta keracunan makanan (Mamuaja, 2016).

Keamanan pangan adalah hal yang harus diperhatikan karena dapat berdampak pada kesehatan. Menurut Peraturan Pemerintah RI No. 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan, keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah Pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi.

Keamanan pangan ditentukan oleh ada tidaknya komponen yang berbahaya baik secara fisik, kimia maupun mikrobiologi (Rinto dkk., 2009). Keamanan pangan secara fisik dapat ditentukan oleh ada tidaknya kontaminasi dari bahan-bahan yang tidak dapat dicerna seperti plastik, logam, maupun bahan yang dapat menggagu pencernaan manusia. Secara kimia dapat ditentukan dari ada tidaknya zat-zat kimia berbahaya yang tidak boleh digunakan sebagai bahan pangan seperti formalin, boraks, dan insektisida serta bahan tambahan makanan yang dibatasi penggunaannya seperti asam benzoat, askorbat, laktat sitrat dan bahan tambahan pangan lainnya sesuai dengan SNI 01-0222-1995. Secara mikrobiologi dapat ditentukan dari ada tidaknya bakteri-bakteri patogen maupun racun yang ditimbulkannya pada bahan pangan (BSN, 1995 dalam (Rinto dkk., 2009).

Berdasarkan kenyataan, belakangan ini masalah mengenai jaminan mutu dan keamanan pangan terus berkembang sesuai dengan tuntutan dan persyaratan konsumen serta dari tingkat kehidupan dan kesejahteraan manusia. Bahkan pada beberapa tahun terakhir ini, konsumen telah menyadari bahwa mutu dan keamanan pangan tidak bisa dijamin hanya dengan hasil uji pada produk akhir di laboratorium. Konsumen meyakini dengan pemakaian bahan baku yang baik, ditangani atau di "manage" dengan baik, diolah dan didistribusikan dengan baik akan menghasilkan produk akhir pangan yang baik pula. Oleh karena itu, berkembanglah berbagai sistem yang dapat memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan mulai dari proses produksi hingga ke tangan konsumen yaitu ISO-9000, QMP (*Quality Management Program*), HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) dan lain-lain (Mamuaja, 2016).

2.2 Selai

Selai adalah makanan yang dibuat dari buah-buahan yang berasa asam seperti stroberi, anggur, blueberry dan nanas secara sederhana. Dalam pembuatan selai sangat dipengaruhi oleh jenis buah yang digunakan, suhu serta proses pembuatan selai (Javanmard dan Endan, 2010 dalam Hartini dan Reflesia, 2020).

Selai buah merupakan produk makanan semi basah yang dapat dioles yang dibuat dari pengolahan buah-buahan, gula dengan maupun tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diijinkan. Bahan baku utama dalam pembuatan selai adalah buah-buahan (segar, beku, dalam kaleng, bubur buah, puree, konsentrat) dan gula. Sedangkan, bahan tambahan yang diijinkan dapat ditambahkan pada produk selai buah sesuai dengan peraturan yang berlaku (SNI 3748:2008).

Selai dibuat dari buah-buahan dan gula pasir dengan kandungan total padatan minimal 65%. Menurut Suyanti, selai adalah salah satu jenis makanan awetan yang berupa sari buah atau buah-buahan yang sudah dihancurkan, ditambah gula, dan dimasak hingga kental atau berbentuk setengah padat

(Suyanti, 2010 dalam Muafiroh, 2017). Komposisi bahan mentah selai yaitu terdiri dari 45 bagian bahan utama yang berupa buah atau biji-bijian dan 55 bagian merupakan gula. Selai termasuk golongan makanan semibasah yang berkadar air sekitar 15-40%. Selai memiliki tekstur lunak dan plastis (Suryani, 2004 dalam Muafiroh, 2017).

Selai dapat dibuat dari berbagai macam buah yang dapat dipilih sesuai ketersediaan yang ada di lingkungan sekitar atau berdasarkan rasa buah yang disukai. Pada pembuatan selai, jumlah penambahan gula yang tepat tergantung pada banyak faktor, antara lain tingkat keasaman buah yang digunakan, kandungan gula dalam buah, dan tingkat kematangan buah yang digunakan (Fachruddin, 1997 dalam Nismara, 2017). Umumnya, buah-buahan yang digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan selai adalah nanas, jambu, pepaya, sirsak, dan apel. Agar dapat menghasilkan selai yang berkualitas baik, maka umumnya digunakan jenis buah yang mengandung pektin. Pembuatan selai dapat memberikan hasil terbaik jika formula yang digunakan memiliki perbandingan buah dan gula sebanyak 45:55 (Muafiroh, 2017).

Ada beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam pembuatan selai, antara lain pengaruh panas dan gula selama pemasakan, serta keseimbangan proporsi gula, pektin dan asam (Ramadhan, 2011 dalam (Nismara, 2017). Adapun ciri-ciri selai yang memiliki mutu yang baik yaitu memiliki warna cemerlang, distribusi buah merata, tekstur lembut, cita rasa buah alami, tidak mengalami sineresis dan kristalisasi selama penyimpanan (Yuliani dalam Simanjuntak, 2015 dalam Nismara, 2017).

Tabel 2.1 Syarat mutu selai buah (SNI 3748:2008)

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan :		
	Aroma	-	Normal
	Warna	-	Normal
	Rasa	-	Normal
2.	Serat buah	-	Positif
3.	Padatan terlarut	% fraksi massa	Min. 654
4.	Cemaran logam :		
	Timah (Sn)*	mg/kg	Maks. 250,0*

5.	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks. 1,0
----	--------------------	-------	-----------

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
6.	Cemaran mikroba :		
	Angka lempeng total	Koloni/g	Maks. 1×10^3
	Bakteri <i>coliform</i>	APM/g	<3
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Koloni/g	Maks. 2×10^1
	<i>Clostridium sp.</i>	Koloni/g	<10
	Kapang/Khamir	Koloni/g	Maks. 5×10

*) Dikemas dalam kaleng

2.3 Bahan Tambahan Pangan

Menurut Permenkes RI No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan, termasuk di dalamnya adalah pewarna, penyedap rasa, pengawet, pengental, penguat, dan pengembang. Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan pengangkutan pangan untuk menghasilkan suatu komponen yang mempengaruhi sifat pangan tersebut, baik secara langsung atau tidak langsung.

Penambahan bahan tambahan/zat aditif ke dalam makanan dilakukan untuk meningkatkan mutu suatu produk sehingga mampu bersaing di pasaran. Bahan tambahan tersebut diantaranya: pewarna, penyedap rasa dan aroma, antioksidan, pengawet, pemanis, dan pengental (Winarno, 1992 dalam Wardanita dkk., 2013). Bahan-bahan tambahan seringkali digunakan ke dalam makanan agar orang tertarik untuk memakan makanan yang diolah. Namun, kurangnya perhatian terhadap hal ini telah sering mengakibatkan terjadinya dampak berupa penurunan kesehatan konsumennya, mulai dari keracunan makanan sampai munculnya penyakit kanker akibat penggunaan bahan tambahan makanan yang berbahaya (Wardanita dkk., 2013). Oleh karena itu, dalam penggunaannya Bahan Tambahan Makanan perlu diperhatikan baik dari jenisnya maupun ukurannya. Bahan tambahan yang digunakan adalah bahan

tambahan khusus makanan dan ukurannya sesuai dengan yang telah ditetapkan oleh pemerintah dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI (Fajarwati dan Kusumawati, 2012 dalam Wardanita dkk., 2013).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.033/MenKes/2012, BTP yang digunakan dalam pangan harus memenuhi beberapa persyaratan, antara lain :

- a. BTP tidak dimaksudkan untuk dikonsumsi secara langsung dan/atau tidak diperlakukan sebagai bahan baku pangan.
- b. BTP dapat mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang sengaja ditambahkan ke dalam pangan untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan/atau pengangkutan pangan untuk menghasilkan atau diharapkan menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan tersebut, baik secara langsung atau tidak langsung.
- c. BTP tidak termasuk cemaran atau bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizi.

2.4 Pewarna Bahan Pangan

Warna dari suatu produk makanan maupun minuman adalah salah satu ciri yang penting. Warna merupakan salah satu kriteria dasar yang digunakan untuk menentukan kualitas makanan, seperti warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan (Deman J.M., 1997 dalam Longdong dkk., 2017). Selain itu, beberapa warna spesifik dari buah juga dikaitkan dengan kematangan dan juga warna dapat mempengaruhi persepsi akan rasa. Oleh karena itu, warna memiliki banyak pengaruh terhadap konsumen dalam memilih suatu produk makanan maupun minuman (Longdong dkk., 2017).

Penggunaan zat warna tersebut bertujuan untuk membuat penampilan makanan ataupun minuman menjadi menarik sehingga memenuhi keinginan konsumen. Awalnya makanan diwarnai dengan zat warna alami yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau mineral, namun memperoleh zat warna alami

makanan tersebut memerlukan biaya yang mahal. Selain itu, pewarna alami umumnya tidak stabil terhadap pengaruh cahaya dan panas sehingga sering tidak cocok untuk digunakan dalam industri makanan (Yuliarti, 2007 dalam Longdong dkk., 2017). Kestabilan zat warna alami tergantung pada beberapa faktor, antara lain cahaya, oksigen, logam berat, oksidasi, temperatur, keadaan air, dan pH. Oleh karena itu, zat warna sintetis pun menjadi pilihan yang digunakan oleh produsen. Adapun keunggulan zat warna sintetis, antara lain lebih murah, lebih mudah untuk digunakan, lebih stabil, lebih tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan, memiliki daya mewarnainya lebih kuat, dan memiliki rentang warna yang lebih luas (Nollet, 2004 dalam Samosir dkk., 2018).

Dalam analisa suatu zat warna, perlu mengetahui penggolongannya agar memudahkan dalam pelaksanaannya. Zat warna dapat digolongkan menjadi empat jenis, yaitu (1) berdasarkan asalnya dibagi menjadi dua yaitu zat warna alam dan zat warna sintetis, (2) berdasarkan penyusunannya dibagi menjadi dua yaitu zat warna pigmen dan lakes, (3) berdasarkan kelarutannya dibagi menjadi dua yaitu zat warna larut dalam pelarut lemak/minyak dan zat warna larut dalam air, dan (4) berdasarkan sifat keasamannya dibagi menjadi dua yaitu zat warna bersifat asam dan zat warna bersifat basa (Widana dan Yuningrat, 2007 dalam Wardanita dkk., 2013).

Secara umum, pewarna dibagi menjadi dua jenis, yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis. Pewarna alami aman dikonsumsi karena berasal dari tanaman, hewan, dan mineral. Namun sebaliknya, pewarna sintetis adalah pewarna yang berasal dari bahan kimia yang sering digunakan sebagai pewarna tekstil, cat, printing dan lainnya. Pewarna sintetis berdampak buruk bagi kesehatan manusia, seperti iritasi mata, iritasi kulit, kerusakan hati, mutagenik dan karsinogenik (Hevira et al., 2020 dalam Hevira dkk., 2020). Zat pewarna alami dapat diperoleh dari tumbuhan maupun hewan, seperti wortel, pepaya, daun pandan, klorofil, cochineal. Sedangkan untuk bahan sintetis diperoleh melalui proses kimia menggunakan bahan-bahan kimia, contohnya: tartrazin, indigotin dan eritrosin (Saparinto dan Hidayat, 2006 dalam Krisyan dkk., 2021). Berikut adalah tabel bahan pewarna alami dan sintetis yang diizinkan di

Indonesia menurut Permenkes RI No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan.

Tabel 2.2 Bahan pewarna alami yang diizinkan di Indonesia (Permenkes RI No. 033 Tahun 2012)

No.	Nama BTP Pewarna alami (<i>Natural colour</i>)	INS
1.	Kurkumin CI. No. 75300 (<i>Curcumin</i>)	100(i)
2.	Riboflavin (<i>Riboflavins</i>):	
	Riboflavin (sintetik) (<i>Riboflavin, synthetic</i>)	101(i)
	Riboflavin 5'- natrium fosfat (<i>Riboflavin 5'-phosphate sodium</i>)	101(ii)
	Riboflavin dari <i>Bacillus subtilis</i> (<i>Riboflavin (Bacillus subtilis)</i>)	101(iii)
3.	Karmin dan ekstrak cochineal CI. No. 75470 (<i>Carmines and cochineal extract</i>):	
	Karmin CI. No. 75470 (<i>Carmines</i>)	120
	Ekstrak cochineal No. 75470 (<i>Cochineal extract</i>)	120
4.	Klorofil CI. No. 75810 (<i>Chlorophyll</i>)	140
5.	Klorofil dan klorofilin tembaga kompleks CI. No. 75810 (<i>Chlorophylls and chlorophyllins, copper complexes</i>)	141
6.	Karamel I (<i>Caramel I – plain</i>)	150a
7.	Karamel III amonia proses (<i>Caramel III – ammonia process</i>)	150c
8.	Karamel IV amonia sulfit proses (<i>Caramel IV – sulphite ammonia process</i>)	150d
9.	Karbon tanaman CI. 77266 (<i>Vegetable carbon</i>)	153
10.	Beta-karoten (sayuran) CI. No. 75130 (<i>Carotenes, beta(vegetable)</i>)	160a(ii)
11.	Ekstrak anato CI. No. 75120 (berbasis bixin) (<i>Annatto extracts, bixin based</i>)	160b(i)
12.	Karotenoid (<i>Carotenoids</i>):	
	Beta-karoten (sintetik) CI. No. 40800 (<i>beta-Carotenes, synthetic</i>)	160a(i)
	Beta-karoten dari <i>Blakeslea trispora</i> (<i>beta-Carotenes (Blakeslea trispora)</i>)	160a(iii)
	Beta-apo-8'-karotenal CI. No. 40820 (<i>beta-Apo-8'-Carotenal</i>)	160e
	Etil ester dari beta-apo-8'asam karotenoat CI. No. 40825 (<i>beta-apo-8'-Carotenoic acid ethyl ester</i>)	160f
13.	Merah bit (<i>Beet red</i>)	162
14.	Antosianin (<i>Anthocyanins</i>)	163
15.	Titanium dioksida CI. No. 77891 (<i>Titanium dioxide</i>)	171

Tabel 2.3 Bahan pewarna sintetis yang diizinkan di Indonesia (Permenkes RI No. 033 Tahun 2012)

No.	Nama BTP Pewarna sintetis (<i>Synthetic colour</i>)	INS
1.	Tartrazin CI. No. 19140 <i>Tartrazine</i>	102
2.	Kuning kuinolin CI. No. 47005 <i>Quinoline yellow</i>	104
3.	Kuning FCF CI. No. 15985 <i>Sunset yellow FCF</i>	110
4.	Karmoisin CI. No. 14720 (<i>carmoisine</i>)	122
5.	Ponceau 4R CI. No. 16255 (<i>Ponceau 4R</i>)	124
6.	Eritrosin CI. No. 45430 (<i>Erythrosine</i>)	127
7.	Merah allura CI. No. 16035 (<i>Allura red</i>)	129
8.	Indigotin CI. No. 73015 (<i>Indigotine</i>)	132
9.	Biru berlian FCF CI No. 42090 (<i>Brilliant blue FCF</i>)	133
10.	Hijau FCF CI. No. 42053 (<i>Fast green FCF</i>)	143
11.	Coklat HT CI. No. 20285 (<i>Brown HT</i>)	155

Pemerintah Indonesia melalui peraturan Menteri Kesehatan No.239/MenKes/Per/V/1985 menetapkan 30 lebih zat pewarna berbahaya, salah satunya Rhodamin B dimana zat ini ditetapkan sebagai zat yang dilarang penggunaannya pada makanan (Herman, 2010 dalam (Purniati dkk., 2015). Berikut ini adalah tabel zat warna yang dinyatakan berbahaya menurut Permenkes No. 239/Menkes/Per/V/85 tentang Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan sebagai Bahan Berbahaya.

Tabel 2.4 Zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya (Permenkes No. 239/Menkes/Per/V/85)

No.	Nama	Nomor Indeks Warna (C. I. No.)
1.	Auramine (C.I Basic Yellow 2)	41000
2.	Alkanet	75520
3.	Butter Yellow (C.I. Solvent Yellow 2)	11020
4.	Black 7984 (Food Vlack 2)	27755
5.	Burn Unber (Pigment Brown 7)	77491
6.	Chrysoidine (C.I. Basic Orange 2)	11270
7.	Chrysoine S (C.I Food Yellow 8)	14270
8.	Citrus Red No. 2 Brown 2)	12156
9.	Chocolate Brown FB (Food	-
10.	Fast Red E (C. I Food Red 4)	16045
11.	Fast Yellow AB (C. I Food Yellow 2)	13015
12.	Guinea Green B (C. I Acid Green No. 3)	42085
13.	Indanthrene Blue RS (C. I Food Blue 4)	69800
14.	Magenta (C. I Basic Violet 14)	42510
15.	Metanil Yellow (Ext. D&C Yellow No. 1)	13065
16.	Oil Orange SS (C. I Solvent Orange 2)	12100
17.	Oil Orange XO (C. I Solvent Orange 7)	12140

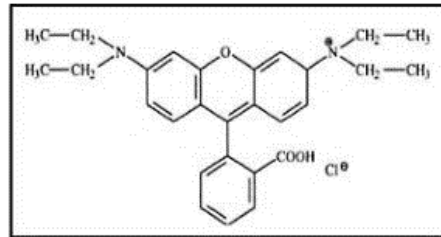
No.	Nama	Nomor Indeks Warna (C. I. No.)
18.	Oil Orange AB (C. I Solvent Yellow 5)	11380
19.	Oil Yellow AB (C. I Solvent Yellow 6)	11390
20.	Orange G (C. I Food Orange 4)	16230
21.	Orange GGN (C. I Food Orange 2)	15980
22.	Orange RN (Food Orange 1)	15970
23.	Orchid and Orcein	-
24.	Ponceau 3R (Acid Red 1)	16155
25.	Ponceau SX (C. I Food Red 1)	14700
26.	Ponceau 6R (C. I Food Red 8)	16290
27.	Rhodamin B (C. I Food Red 15)	45170
28.	Sudan I (C. I Solvent Yellow 14)	12055
29.	Scarlet GN (Food Red 2)	14815
30.	Violet 6 B	42640

2.5 Rhodamin B

Rhodamin B adalah pewarna yang berbentuk bubuk kristal, berwarna merah keunguan, tidak berbau, dan berwarna merah terang neon jika dalam bentuk larutan (fluorescent) (Sari, 2014 dalam Hevira dkk., 2020). Nama lain dari Rhodamin B yaitu tetraetil Rhodamin, D and C Red No.19, ADC Rhodamine B, Aizen Rhodamine, Brilliant Pink, dan merah K10 (BPOM, 2014; BPOM, 2008 dalam Permatahati dan Yanti, 2021) dengan rumus molekul $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ dan berat molekul sebesar 479,01 g/mol. Rhodamin B memiliki titik didih sebesar $310^{\circ}C$, titik leleh $270^{\circ}C$, dan titik lebur $165^{\circ}C$. Zat pewarna ini dapat larut dalam air alkohol, eter, benzena, sedikit larut dalam asam klorida dan natrium hidroksida serta tidak larut dalam pelarut organik (Kemenkes RI, 2014 dalam Permatahati dan Yanti, 2021).

Rhodamin B adalah salah satu bahan yang dilarang penggunaannya dalam kegiatan atau produksi pangan. Rhodamin B memiliki ciri-ciri antara lain berbentuk serbuk kristal berwarna kehijauan, dalam bentuk terlarut pada konsentrasi tinggi akan berwarna merah keunguan dan pada keadaan konsentrasi rendah berwarna merah cerah (Berta, et.al., 2012 dalam Krisyan dkk., 2021). Zat pewarna sintesis Rhodamin B merupakan salah satu zat pewarna yang dilarang penggunaannya dalam makanan dan dinyatakan sebagai bahan berbahaya menurut Permenkes RI No. 239/Menkes/Per/V/1985 dan

direvisi melalui Permenkes RI No. 722/Menkes/Per/IX/1988 tentang zat warna yang dinyatakan berbahaya dan dilarang di Indonesia. Terkadang terjadi penyalahgunaan dalam penggunaan zat pewarna ini, hal tersebut dapat terjadi karena produsen hanya mencari keuntungan tanpa memikirkan konsumen sehingga kepentingan konsumen terabaikan (Hidayati dan Triwahyuni, 2008 dalam Wardanita dkk., 2013).



Gambar 2.1 Rumus molekul Rhodamin B (Permatahati dan Yanti, 2021)

Makanan yang mengandung Rhodamin B memiliki ciri-ciri, antara lain memiliki warna yang cerah mengkilap dan lebih mencolok, terkadang warna terlihat tidak rata, terdapat gumpalan warna pada produk, dan apabila dikonsumsi memiliki rasa yang sedikit lebih pahit. Biasanya produk pangan yang mengandung zat pewarna ini tidak mencantumkan kode, label, merek, atau identitas lengkap lainnya (Nurrohmah, 2018 dalam Widiantera dkk., 2020).

Menurut WHO (2000) dalam Permatahati dan Yanti (2021), Rhodamin B dapat berbahaya bagi kesehatan manusia karena adanya kandungan logam berat dan karena sifat kimia dari Rhodamin B itu sendiri. Rhodamin B mengandung senyawa klor (Cl) yang merupakan senyawa halogen yang berbahaya dan reaktif. Jika tertelan, senyawa ini akan berusaha untuk mencapai stabilitas dalam tubuh dengan mengikat senyawa lain di dalam tubuh, sehingga dapat menjadi racun bagi tubuh. Selain itu, Rhodamin B juga memiliki senyawa alkylating (CH₃- CH₃) yang dapat mengikat protein, lemak, dan DNA dalam tubuh.

Dampak penggunaan Rhodamin B sangat berbahaya bagi kesehatan dan apabila terpapar dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan gangguan fungsi hati. Selain itu, *International Agency for Research on Cancer*

(IARC) juga mengelompokkan senyawa ini sebagai pemicu kanker kategori 3 (BPOM RI, 2008 dalam Permatahati dan Yanti, 2021). Beberapa penelitian juga menyatakan bahwa Rhodamin B dapat menumpuk di dalam tubuh dalam jangka waktu yang panjang dan dapat menyebabkan gejala pembesaran hati dan ginjal, disfungsi hati, kerusakan hati, gangguan fisiologis tubuh, bahkan dapat menyebabkan kanker hati (Wibowo dan Saebani, 2016 dalam Permatahati dan Yanti, 2021). Oleh karena itu, penggunaan Rhodamin B dalam obat, makanan dan kosmetik dilarang. Hal tersebut sesuai dengan Permenkes RI No.722/Menkes/per/XI/1988 dan Dirjen POM No.00366/C/II/1990 yang menyatakan bahwa Rhodamin B termasuk dalam 30 zat pewarna yang tidak boleh terdapat dalam obat, makanan, dan kosmetik (Kusumaningsih dkk., 2020).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah teknik pemisahan suatu komponen kimia dengan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen) (Alen, dkk. 2017 dalam Zarwinda dan Elfariyanti, 2020). Prinsip pemisahan secara kromatografi lapis tipis yaitu perbedaan kepolaran "*like dissolve like*" dimana pelarut yang memiliki sifat polar akan berikatan dengan senyawa yang juga memiliki sifat polar dan begitupun sebaliknya, semakin dekat kepolaran antara senyawa dengan eluent maka senyawa akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut (Siswoyo dan Asnawati, 2007 dalam Khumaeni dkk., 2020).

Kromatografi Lapis Tipis banyak digunakan untuk analisis kualitatif cepat. Penggunaan KLT untuk analisis kuantitatif juga dimungkinkan, meskipun metode ini paling banyak digunakan untuk skrining cepat, misalnya untuk mengetahui apakah terkandung senyawa yang diinginkan dalam sampel dan berapa banyak zat pengotor yang ada. Adapun keunggulan dari metode ini, yaitu dapat digunakan untuk menganalisis beberapa sampel secara bersamaan, namun pelarut yang digunakan sebagai fase gerak harus memiliki kemurnian tinggi. Adanya sejumlah kecil air atau kotoran lain dapat menghasilkan

kromatogram yang buruk (Christian, 2014 dalam Permatahati dan Yanti, 2021).

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode kromatografi yang paling sederhana dan banyak digunakan. Untuk melaksanakan analisis dengan metode ini membutuhkan peralatan dan bahan cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (chamber) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Pada analisis menggunakan metode KLT, ada beberapa persiapan yang harus dipenuhi untuk mendapatkan hasil pemisahan sampel yang baik yaitu meliputi preparasi sampel, penanganan lempeng KLT, penanganan eluen, penanganan chamber tempat elusi, aplikasi sampel, proses pengembangan sampel dan evaluasi noda (Wulandari, 2011).

Kromatografi lapis tipis menggunakan suatu zat penyerap yang berupa lapis tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata. Pemisahan ini didasarkan pada adsorpsi, partisi atau kombinasi dari kedua efek, tergantung jenis penyangga, cara pembuatan, dan jenis pelarut yang digunakan. Identifikasi diperoleh dengan pengamatan bercak dengan nilai Rf dan ukuran yang hampir sama yang dilakukan dengan menotolkan zat uji dan baku pembanding pada lempeng yang sama (Siregar, 2018 dalam Anshari dkk., 2020). Adapun rumus untuk menghitung nilai Rf yaitu:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa terlarut (cm)}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut (cm)}} \dots\dots\dots(1)$$

Rumus menghitung nilai Rf (Lintongan dkk., 2019)

Analisis dengan metode KLT diawali dengan melakukan penotolan sampel pada fase diam (lempeng KLT) untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, maka campuran komponen-komponen sampel akan bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Berbagai mekanisme

pemisahan terlibat dalam penentuan kecepatan migrasi. Kecepatan migrasi komponen sampel tergantung pada sifat fisika kimia dari fase diam, fase gerak dan komponen sampel. Selanjutnya, ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil dan fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona/bercak yang dihasilkan dapat dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari, 2011).

Menurut Wulandari (2011), pemilihan eluen adalah faktor yang paling berpengaruh pada sistem Kromatografi Lapis Tipis. Eluen dapat terdiri dari satu pelarut atau campuran dua sampai enam pelarut. Campuran pelarut harus saling campur dan tidak ada tanda-tanda kekeruhan. Adapun fungsi eluen dalam KLT, yaitu 1) untuk melarutkan campuran zat; 2) untuk mengangkat atau membawa komponen yang akan dipisahkan melewati sorben fase diam sehingga noda memiliki R_f dalam rentang yang dipersyaratkan; 3) untuk memberikan selektivitas yang memadai untuk campuran senyawa yang akan dipisahkan. Eluen harus memenuhi persyaratan sebagai berikut: 1) memiliki kemurnian yang cukup; 2) Stabil; 3) Memiliki viskositas rendah; 4) memiliki partisi isothermal yang linier; 5) Tekanan uap yang tidak terlalu rendah atau tidak terlalu tinggi; 6) Toksisitas serendah mungkin.

Jenis eluen yang digunakan pada KLT sama seperti yang digunakan pada Kromatografi Kertas. Hal tersebut dikarenakan eluen tersebut diharapkan dapat memberikan pemisahan yang baik juga pada KLT (Ayuningtyas dkk., 2012). Pelarut isoproponal : ammonia (4:1) merupakan pelarut yang dapat digunakan sebagai eluen dalam analisis KLT. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Surdijati, dkk., (2001) mengenai Identifikasi dan Penetapan Kadar Zat Warna Merah Dalam Dawet, digunakannya eluen isopropanol : ammonia (4:1) karena memiliki hasil pemisahan yang baik dari hasil KLT zat warna merah standart Ponceau 4R, Carmoisin, Allura Red, Erythrosin, Amaranth, dan Rhodamin B.